



AVALIAÇÃO DE EFEITOS MUTAGÊNICOS DE UM COMPOSTO MONOTERPENO EM BACTÉRIAS

Cleonice Hoffmann¹; Jaqueline Nascimento Picada²

¹ Aluna do Curso de Graduação em Biomedicina –Bolsista PROBIC/FAPERGS/ULBRA - cleo2506@hotmail.com

² Professora do Laboratório de Genética Toxicológica (TOXIGEN) - jpicada@gmail.com

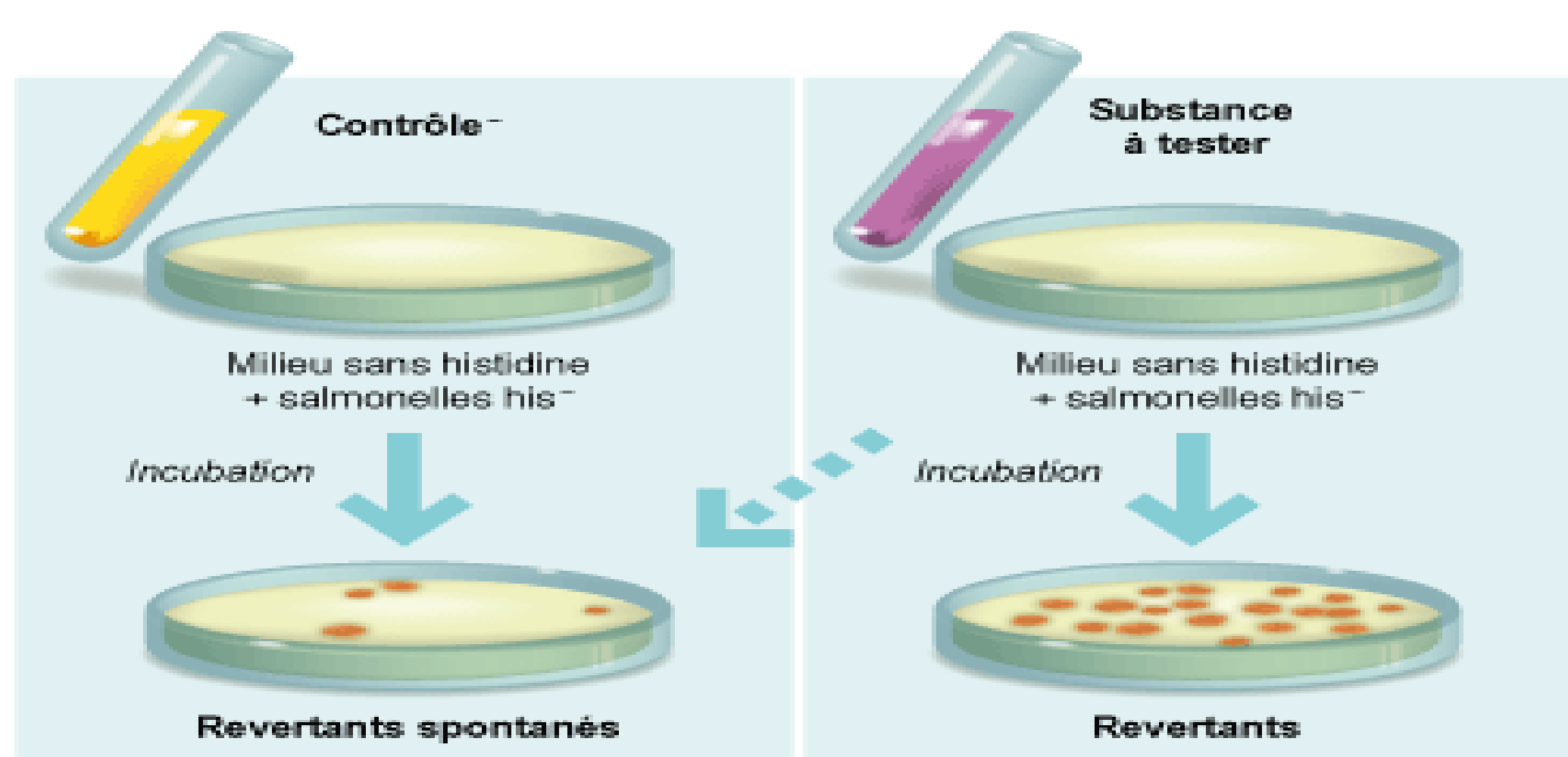
INTRODUÇÃO:

O teste de AMES, é realizado in vitro, caracteriza-se pela utilização de linhagens de bactérias *Salmonellatyphimurium*, sensíveis a substâncias capazes de induzir diferentes tipos de mutação. Estas linhagens, na presença de agentes mutagênicos, reverterem seu caráter de auxotrofia para síntese de histidina e passam a formar colônias em um meio desprovido deste aminoácido. Desta forma, é possível estabelecer a ação mutagênica de um composto em função de sua concentração, através da contagem de colônias por placa.

A Gama-decanolactona (GD) é um composto monoterpene e a avaliação deste composto psicofarmacológico em ratos revelou que ele tem um efeito dose-dependente no sistema nervoso central (SNC), incluindo hipnótico, anticonvulsivante e indutor de hipotermia; a administração única de GD revelou seu efeito protetor contra convulsões induzidas por pentilenotetrazol, (Coelho de Souza et al., 1997). Considerando que GD tem mostrado efeitos farmacológicos sobre o sistema nervoso central (SNC), em estudos anteriores, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a mutagenicidade deste composto, utilizando-se o teste de AMES, um dos testes requeridos para registro de novos fármacos.

METODOLOGIA:

Foram utilizadas cinco (05) linhagens de *Salmonellatyphimurium* TA102, TA98, TA97a, TA100 e TA1535, na presença e ausência de ativação metabólica (S9mix), seguindo a metodologia padrão desenvolvida por Maron e Ames (1983) e revisada em Mortelmans e Zeiger (2000). As culturas bacterianas ($1-2 \times 10^9$ células/mL) foram tratadas com a substância teste, em diferentes concentrações, em tubos de ensaio durante 20 minutos a 37°C, em banho-maria e após foram semeadas em meio mínimo (MM), constituído por glicose 40%, e meio E de Vogel-Bonner (sulfato de magnésio a 1%, ácido cítrico monoidratado a 10%, fosfato de potássio dibásico a 50%, fosfato de sódio e amônio a 17,5%), solidificado com 1,5% de ágar. Dois mL de ágar de superfície (ágar a 0,9%, NaCl a 0,75%, 50µM de histidina, 50µM de biotina, pH 7,4, 45°C) foram adicionados e após mistura em agitador de tubos, semeados em placas de MM. Todas as placas foram incubadas por 48 horas a 37°C em incubadora BOD. Substâncias mutagênicas foram utilizadas como controle positivo.



RESULTADOS:

Tabela 1. Indução de revertentes *his+* em linhagens de *S. Typhimurium* tratadas com gamma-decanolactona (GD) na ausência de ativação metabólica (S9 mix).

S. typhimurium linhagens											
Substância	Concentração (µg/placa)	TA98		TA97a		TA100		TA1535		TA102	
		Rev/placa ^a	MP ^b	Rev/placa ^a	MP ^b	Rev/placa ^a	MP ^b	Rev/placa ^a	MP ^b	Rev/placa ^a	MP ^b
Sem ativação metabólica (-S9)											
NC ^c	-	28.7±8.3	-	90.7±24.0	-	125.0±1.0	-	13.3±2.0	-	480.0±37.8	-
GD	5	23.3±5.8	0.81	93.0±26.5	1.03	122.0±21.7	0.98	11.7±5.1	0.88	463.0±32.7	0.96
	10	25.0±4.4	0.87	105.3±11.6	1.16	117.7±17.6	0.94	9.7±2.1	0.73	460.0±3.5	0.96
	50	22.0±5.2	0.77	113.3±6.7	1.25	114.3±4.7	0.91	10.3±3.1	0.77	496.7±54.7	1.03
	100	22.3±2.3	0.78	109.7±15.3	1.21	109.3±13.0	0.87	7.7±2.9	0.58	498.0±47.8	1.04
	200	35.0±19.0	1.22	107.0±9.5	1.18	83.3±4.7	0.67	11.0±1.7	0.83	471.7±26.0	0.98
PC ^d	0,5 (4NQO) 1 (NaN ₃)	370.0±28.3***	12.91	531.5±38.9***	5.86	1312.0±339.5***	10.50	617.5±44.6***	46.32	3838.0±503.0***	8.00

Observou-se a formação de microcolônias nas placas em todas as linhagens na dose mais alta testada (200 µg/placa), sugerindo toxicidade nesta dose. Portanto, GD não aumentou de forma significativa o número de revertentes nas 05 (cinco) linhagens testadas, na ausência de ativação metabólica (S9 mix).

CONCLUSÃO:

Os resultados sugerem que, sem metabolização, Gama-decanolactone (GD) não induz mutações gênicas tanto por substituição de pares de bases como por deslocamento no quadro de leitura.

REFERÊNCIAS:

- MARON, D.M.; AMES, B.N. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.* 1983;113:173-215.
- MORTELMANS, K.; ZEIGER E. The Ames *Salmonella*/microsome mutagenicity assay. *Mutat. Res.* 2000;455:29-60.
- VIANA, C.C.; DE OLIVEIRA, P.A.; BRUM, L.F.; PICADA, J.N.; PEREIRA, P., 2007. Gamma-decanolactone effect on behavioral and genotoxic parameters. *Life Sci.* 80, 1014–1019.
- PFLÜGER, P.; VIAU, C.M.; COELHO, V.R.; BERWIG, N.A.; STAUB, R.B.; PEREIRA, P.; SAFFI, J., 2016. Gamma-decanolactone inhibits iNOS and TNF-alpha production by lipopolysaccharide-activated microglia in N9 cells. *E. J. Pharmacology* 780, 38–45.
- DE OLIVEIRA, P.A.; LINO, F.L.; CAPPELLARI, S.E.; DA SILVA BRUM, L.F.; PICADA, J.N.; PEREIRA, P., 2008. Effects of gamma-decanolactone on seizures induced by PTZ-kindling in mice. *Exp. Brain Res.* 187, 161–166